

JP2002348243

Publication Title:

INFUSION PREPARATION FOR CURING ARTHROPATHY

Abstract:

Abstract of JP2002348243

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an infusion preparation for curing arthropathy showing high curing effects and requiring less number of administration, which could not have been obtained by conventional mixed preparations consists of hyaluronic acid with hyaluronic acid gel or hyaluronic acid with phospholipid. **SOLUTION:** (1) Infusion preparation for curing arthropathy containing hyaluronic acid gel having bioadaptation and phospholipid, and/or hyaluronic acid. (2) Infusion preparation for curing artbropathy as mentioned in (1) which is characterized by containing 5 to 60% of hyaluronic acid gel having bioadaptation. Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

Courtesy of <http://v3.espacenet.com>

This Patent PDF Generated by Patent Fetcher(TM), a service of Stroke of Color, Inc.

Application of: Wimmer et al.
Attorney Docket No.: 8932-1289-999
Reference No.: B01

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-348243

(P2002-348243A)

(43) 公開日 平成14年12月4日 (2002. 12. 4)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	キーワード* (参考)
A 6 1 K 31/728		A 6 1 K 31/728	4 C 0 7 6
	47/24	47/24	4 C 0 8 6
A 6 1 P 19/02		A 6 1 P 19/02	

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号	特願2001-158454 (P2001-158454)	(71) 出願人	000003296 電気化学工業株式会社 東京都千代田区有楽町1丁目4番1号
(22) 出願日	平成13年5月28日 (2001. 5. 28)	(72) 発明者	橋本 正道 東京都町田市旭町3丁目5番1号 電気化学工業株式会社中央研究所内
		(72) 発明者	姫田 康一 東京都町田市旭町3丁目5番1号 電気化学工業株式会社中央研究所内
		(72) 発明者	梅田 俊彦 東京都町田市旭町3丁目5番1号 電気化学工業株式会社中央研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 関節症治療用注入剤

(57) 【要約】

【課題】 従来のヒアルロン酸及びヒアルロン酸ゲル、又はヒアルロン酸及びリン脂質の構成の混合製剤では得られない製剤の投与回数の低減と高い治療効果を有する関節症治療用注入剤を提供すること。

【解決手段】 (1) 生体適合性のヒアルロン酸ゲル及びリン脂質、及び／又はヒアルロン酸を含有してなる関節症治療用注入剤、(2) 生体適合性のヒアルロン酸ゲルの濃度が、5～60%であることを特徴とする(1)記載の関節症治療用注入剤を構成とする。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体適合性のヒアルロン酸ゲル及びリン脂質、及び／又はヒアルロン酸を含有してなる関節症治療用注入剤。

【請求項2】 生体適合性のヒアルロン酸ゲルの濃度が、5～60％であることを特徴とする請求項1記載の関節症治療用注入剤。

【請求項3】 生体適合性のヒアルロン酸ゲルが、粉砕状で含有されていることを特徴とする請求項1記載の関節症治療用注入剤。

【請求項4】 リン脂質の濃度が、1～200mg/mlである請求項1記載の関節症治療用注入剤。

【請求項5】 該リン脂質がフォスファチジルコリン、フォスファチジルエタノールアミン、フォスファチジルセリン、フォスファチジルグリセロール、フォスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン及びそれらの誘導体からなる群から選択されてなる請求項1記載の関節症治療用注入剤。

【請求項6】 該リン脂質が、 α -ジパルミトイルフォスファチジルコリンである請求項1記載の関節症治療用注入剤。

【請求項7】 ヒアルロン酸の濃度が、1～10mg/mlである請求項1記載の関節症治療用注入剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、生体適合性のヒアルロン酸ゲルを用いた関節症治療用注入剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】関節液は、生体関節において関節軟骨へ栄養を供給するとともに、他に類を見ない優れた潤滑機能とショックアブソーバー機能を有し、その優れた粘弾性機能は関節液中の主成分の一つであるヒアルロン酸（以下、HAと略す）に大きく支配されている。HAは、 β -D-N-アセチルグルコサミンと β -D-グルクロン酸が交互に結合した直鎖状の高分子多糖であり、その分子量は数百万～1千万もの高分子量であることが知られている。

【0003】一般に、変形性関節症、慢性関節リウマチ等の各種関節症の患者関節液中のHA濃度及び分子量の分析結果から、関節症患者の関節液は正常関節液に比較し、濃度、分子量において低下傾向が認められており、このことが関節液の潤滑作用、関節軟骨表面保護作用の低下に起因する運動機能障害や疼痛症状の発生に密接な関係があるものと考えられている。

【0004】これら関節疾患のうち変形性膝関節症に有効な手段として、HA溶液を疾患関節部位へ注入する方法が採用されてきており、その膝関節治療剤の例としてはアルツ（生化学工業製、平均分子量90万）、Hyalgan（Fidia製、平均分子量<50万）や、高分子量の方

が一層の効果が期待できるとの考えのもと本発明者らが開発した、慢性関節リウマチにも適応するスベニール（アベンティスファーマ社／中外製薬社／電気化学工業社製、平均分子量190万）が挙げられる。

【0005】また、HAを化学的に架橋することで高分子化し粘弾性を改良した、架橋HAゲルを含有するSynvisc（ジェンザイム製）が開発されている。この架橋HAゲルは架橋剤ジビニルスルホンでHAを化学的に架橋したHAゲルでハイランと呼ばれる。ハイラン及びハイランを架橋したゲルの生成法は、米国特許第4,713,448号に詳細に記載されている。HAをベースとする単一及び混合ゲルは、米国特許第4,582,865号及び同第4,605,691号に記載されている。

【0006】これら関節製剤を用いた治療は、患者の関節に直接1週間毎に3～5回の注射を行う必要があり、患者及び医者負担の面からその低減が望まれている。

【0007】一方、リン脂質は関節軟骨表面に存在し表面を疎水性に保ち、関節軟骨間に関節液による流体潤滑膜を形成するのに寄与している。従って、このリン脂質を用いHA水溶液に混合することで、関節面の潤滑を改善する関節炎治療のための潤滑組成物を提供することができる。（特願昭63-507021号）通常、人の膝関節に生じる定常負荷約3kg/cm²ではヒアルロン酸の運動摩擦係数は上昇し潤滑能力が低下すると言われているが、リン脂質を添加することにより膝関節への負荷が20kg/cm²の厳しい条件でも運動摩擦係数を0.003～0.05に低く保ち、潤滑能力を改善できる。（「生体関節に於ける多モード適応潤滑機構と摩擦特性」（日本機械学会第73期通常総会講演会講演要旨集、502-503（1996））。「韌帯切離による変形性関節症モデル家兎に対するリン脂質リボソームの関節腔内注入効果」（日本臨床バイオメカニクス学会誌、Vol.19,131-135（1998）等）。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】従来のHA及びHAゲルの構成の潤滑組成物は、HA注入だけでは困難であった関節液の粘弾性のさらなる向上を可能とし、潤滑作用や関節軟骨表面保護作用の改善が期待できる。しかし、その投与回数は患者の関節に直接1週間毎に3～5回の注射を行う必要があった。また、関節に負荷のかかる条件下では軟骨間の摩擦係数を低下させることは難しく、さらに関節軟骨が摩耗した重度の病態では、関節液による境界潤滑膜が形成されにくい潤滑作用の改善を十分に発揮できなかった。

【0009】一方、HA及びリン脂質の構成の潤滑組成物は、関節に負荷のかかる条件下でも軟骨間の摩擦を低下させ、また、関節軟骨が摩耗した病態でも、リン脂質が軟骨面を疎水性に保つことができるため関節の摩擦を低減することが期待できる。しかし、関節液の粘弾性は改善できないため、潤滑作用や関節軟骨表面保護作用を

十分に得ることは難しい。

【0010】本発明者らは、物性試験及び動物試験を鋭意検討した結果、HAゲル及びリン脂質、及び／又はHAを含有してなる構成が、動物を用いた薬理試験に於いて驚くべき相乗効果を奏し、著名な製剤の投与回数の低減効果と高い治療効果を発揮することを見出し、本発明を完成するに至った。

【0011】

【課題を解決するための手段】即ち、本発明は、(1)生体適合性のHAゲル及びリン脂質、及び／又はHAを含有してなる関節症治療用注入剤、(2)生体適合性のHAゲルの濃度が、5～60%であることを特徴とする(1)記載の関節症治療用注入剤、(3)生体適合性のHAゲルが、粉砕状態で含有されていることを特徴とする(1)記載の関節症治療用注入剤、(4)リン脂質の濃度が、1～200mg/mlである(1)記載の関節症治療用注入剤、(5)該リン脂質がフォスファチジルコリン、フォスファチジルエタノールアミン、フォスファチジルセリン、フォスファチジルグリセロール、フォスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン及びそれらの誘導体からなる群から選択されてなる(1)記載の関節症治療用注入剤、(6)該リン脂質が、 α -ジパルミトイルフォスファチジルコリンである(1)記載の関節症治療用注入剤、(7)HAの濃度が、1～10mg/mlである(1)記載の関節症治療用注入剤である。

【0012】

【発明の実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。本発明に用いられるHAは、動物組織から抽出したもので、また発酵法で製造したものでその起源を問うことなく使用できる。発酵法で使用する菌株は自然界から分離されるストレプトコッカス属等のHA生産能を有する微生物、又は特開昭63-123392号公報に記載したストレプトコッカス・エクイFM-100(微工研菌寄第9027号)、特開平2-234689号公報に記載したストレプトコッカス・エクイFM-300(微工研菌寄第2319号)のような高収率で安定にHAを生産する変異株が望ましい。上記の変異株を用いて培養、精製されたものが用いられる。本発明に用いられるHAの分子量は、約 1×10^5 ～約 1×10^7 ダルトンの範囲内のものが好ましい。また、上記範囲内の分子量をもつものであれば、より高分子量のものから加水分解処理をして得た低分子量のものでも同様に好ましく使用できる。尚、本発明でいうHAは、そのアルカリ金属塩、例えば、ナトリウム、カリウム、リチウムの塩をも包含する概念で使用される。

【0013】本発明のHAの濃度は、1～10mg/mlが好ましい。1mg/mlより低濃度では粘弾性が低く関節用医薬品としては効果が低く、10mg/mlより高濃度では粘性が高すぎて関節に注入する際、圧力が高くなり取り扱いが困難となる。

【0014】HAの分子量は、一般的に用いられるHPLC(液体クロマトグラフィー)を用いたGPC法や極限粘度測定から導き出すなどの方法で測定できる。

【0015】本発明でいうHAゲルとは、三次元網目構造をもつ高分子及びその膨潤体である。三次元網目構造はHAの架橋構造によって形成されている。なお、HA自体は直鎖状の高分子であり、分岐構造を有さないことが知られている(多糖生化学1 化学編 共立出版 昭和44年)。またゲルとは、新版高分子辞典(朝倉書店 昭和63年)によれば、「あらゆる溶媒に不溶の三次元網目構造をもつ高分子及びその膨潤体」と定義されている。理化学辞典(岩波書店第4版 昭和62年)によれば、「ゾル(コロイド溶液)がジェリー状に固化したもの」と定義されている。

【0016】本発明でいうHAゲルとしては、生体に移植または注入した場合に優れた生体適合性を有するものであればどのようなものでも使用できる。本発明でいう生体適合性とは、本発明のHAゲルと接触する生体組織に好ましくない作用もしくは副作用が全くないか、または最小限であることを意味する。起こり得る副作用としては、毒性、炎症、免疫反応、異物反応、及び被包反応等が挙げられる。

【0017】HAゲルの例としては、化学的架橋剤や化学的修飾剤を用いないHA単独からなるHAゲル(PCT/JP98/03536)や、HAのカルボキシル基と水酸基間のエステル結合形成を導く方法により得られる自己架橋HAを挙げることができる(EP 0341745 B1参照)。また、ジビニルスルホン、ビスエポキシド類、ホルムアルデヒド等の二官能性試薬を架橋剤に用いて架橋したHAゲルを挙げることができる(米国特許第4,582,865号明細書、特公平6-37575号公報、特開平7-97401号公報、特開昭60-130601号公報参照)。また、HA水溶液を、pH2.0～3.8、20～80質量%水溶性有機溶剤存在下におくことを特徴とするHAゲルが挙げられる(特開平5-58881号公報参照)。

【0018】この中でも化学的架橋剤や化学的修飾剤を用いないHA単独からなるHAゲル(PCT/JP98/03536)が、生体適合性の面から特に好ましい。

【0019】本発明に用いられるHAゲルの濃度は、5～60%が好ましい。5%未満では、関節用医薬品としては効果が低く好ましくない。また、60%を越えるとHAゲルの凝集が大きくなり注入の際の取り扱いが難しくなるため好ましくない。

【0020】本発明に用いられるHAゲルは、粉砕状態で含有されていることが好ましい。

【0021】本発明に用いられるリン脂質は、動物組織から抽出したもので、また人工的に合成して製造したものでその起源を問うことなく使用できる。リン脂質は、好ましくはフォスファチジルコリン、フォスファチ

ジルエタノールアミン、フォスファチジルセリン、フォスファチジルグリセロール、フォスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン及びそれらの誘導体を含む。特に好ましくは、 α -ジパルミトイルフォスファチジルコリン (α -DPPC) である。この α -DPPCはL体、D体、あるいはラセミ (DL) 体混合物でもよい。

【0022】本発明に用いられるリン脂質の濃度は、1~200mg/mlが好ましい。リン脂質の濃度が1mg/ml未満では、関節用医薬品としては効果が低く、200mg/mlを越えるとリン脂質の凝集が大きくなり保存の面で難があり、取り扱いが難しくなるため好ましくない。

【0023】リン脂質は、両親媒性物質なのでHA溶液中での安定性などの目的のためリポソーム化しても良いが、特にリポソーム化せず懸濁させるだけでもよい。

【0024】リン脂質の懸濁液を得るには、リン脂質に生理的食塩水を加え、超音波処理すれば容易にリン脂質の生理的食塩水懸濁液が得られる。

【0025】リン脂質のリポソーム化は、定法に従い、次のようにして作成できる。例えば、 α -DPPCをクロロフォルムに1質量%になるように溶解し、これをナス型フラスコにとり、ロータリーエバポレーターでクロロフォルムを蒸発除去させ、ナス型フラスコ表面に α -DPPC薄膜を形成させる。次に、ここに生理的食塩水を加え、超音波処理を行うことにより、 α -DPPCのリポソーム膜の生理的食塩水の懸濁液を得ることができる。

【0026】更に、本発明では、HAゲル及びリン脂質、及び/又はHAに、医薬的に許容し得る生理的食塩水やリン酸緩衝液等を用いることができる。

【0027】

【実施例】以下、詳細な内容について実施例を用いて説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【0028】調製例1

HA溶液の調製

分子量 2×10^6 ダルトンのヒアルロン酸ナトリウム (電気化学工業製) 6gをクリーンベンチ内で計りとり、ナルゲンフィルターにより無菌濾過した5mMのpH7.2リン酸緩衝化生理的食塩水450mlを加えて、ローラーボトルで溶解した (高分子量HAナトリウム 1.3質量%)。

【0029】調製例2

HAゲルの調製

分子量 2×10^6 ダルトンのHAナトリウム (電気化学工業製) を注射用水に溶解し、1質量%のHA水溶液を調整した。この水溶液のpHを、1N塩酸でpH1.5に調整し、HA酸性水溶液を得た。このHA酸性水溶液100mlを、300mlサンプル瓶に入れ、 -20°C に設定した冷凍庫に入れた。120時間の凍結でHAゲ

ルが得られた。次にこれを注射用水10mlを加え10分間放置後デカンテーションする洗浄を3回繰り返した後、生理的食塩水に50mM濃度でリン酸緩衝成分を加えて調整したpH7のリン酸緩衝生理的食塩水200mlを加えデカンテーションする中和を2回繰り返した後、5mMのpH7.2リン酸緩衝化生理的食塩水で十分に洗浄しHAゲルを得た。

【0030】調製例3

リン脂質溶液の調製

1.0gのL- α -DPPC (和光純薬製) に5mMのpH7.2リン酸緩衝化生理的食塩水100mlを加え、これを3分間激しく攪拌し、更に3分間超音波処理を行って懸濁させた。これを 121°C 、15分間のオートクレーブ処理で滅菌した (乳白色の懸濁液となった)。

【0031】実施例1

HAゲル及びリン脂質の混合製剤の調製

ナルゲンフィルターにより無菌濾過した5mMのpH7.2リン酸緩衝化生理的食塩水200mlに、調製例2のHAゲル300mlと調製例3のリン脂質溶液100mlを加えた。この混合溶液をマイクロホモジナイザー (NISSEI EXCELAUTO HOMOGENIZER) を用いHAゲルの破碎処理及びリン脂質の完全な分散を行い、平均粒径が $300 \sim 1,000 \mu\text{m}$ のヒアルロン酸ゲルを含むHAゲル及びリン脂質の混合製剤を得た。なお、これら一連の操作は無菌・無埃環境下で行い、使用する薬液等も予め滅菌処理を行ったものを用いた。

【0032】実施例2

HAとHAゲル及びリン脂質の混合製剤の調製

それぞれ別個に調製した調製例1のHA溶液450mlに、調製例2のHAゲル100mlと調製例3のリン脂質溶液50mlを加えた。この混合溶液をマイクロホモジナイザー (NISSEI EXCEL AUTO HOMOGENIZER) を用い、HAゲルの破碎処理及びリン脂質の完全な分散を行い、平均粒径が $300 \sim 1,000 \mu\text{m}$ のヒアルロン酸ゲルを含むHAとHAゲル及びリン脂質の混合製剤を得た。なお、これら一連の操作は無菌・無埃環境下で行い、使用する薬液等も予め滅菌処理を行ったものを用いた。

【0033】比較例1

HA及びHAゲルの混合製剤の調製

それぞれ別個に調製した調製例1のHA溶液450mlに、調製例2のHAゲル100mlと5mMのpH7.2リン酸緩衝化生理的食塩水50mlを加えた。この混合溶液をマイクロホモジナイザー (NISSEI EXCEL AUTO HOMOGENIZER) を用いHAゲルの破碎処理を行い、平均粒径が $300 \sim 1,000 \mu\text{m}$ のヒアルロン酸ゲルを含むHA及びHAゲルの混合製剤を得た。なお、これら一連の操作は無菌・無埃環境下で行い、使用する薬液等も予め滅菌処理を行ったものを用いた。

【0034】比較例2

HA及びリン脂質の混合製剤の調製

それぞれ別個に調製した調製例1のHA溶液450mlに、調製例3のリン脂質溶液50mlと5mMのpH7.2リン酸緩衝生理食塩水100mlを加えた。この混合溶液をマイクロホモジナイザー (NISSEI EXCEL AUTO HOMOGENIZER) を用いリン脂質の完全な分散を行い、HA及びリン脂質の混合製剤を得た。なお、これら一連の操作は無菌・無埃環境下で行い、使用する薬液等も予め滅菌処理を行ったものを用いた。

【0035】実施例3

HAとHAゲル及びリン脂質の混合製剤の薬理効果

実施例1のHAゲル及びリン脂質の混合製剤、及び実施例2のHAとHAゲル及びリン脂質の混合製剤の薬理効果は、以下の動物試験で評価した。日本白色家兎60羽 (体重約3kg) を麻酔し右膝の前十字靱帯と内側副靱帯を切離した。これにより日本白色家兎の右膝は関節間に異常な応力が負荷されるため、1週間内で関節が炎症

を起こし変形性膝関節炎のモデルとなる。術後7週間後、十分に関節の炎症が惹起された日本白色家兎の右膝に対し、10羽に実施例1のHAゲル及びリン脂質の混合製剤、10羽に実施例2のHAとHAゲル及びリン脂質の混合製剤、10羽に比較例1のHA及びHAゲルの混合製剤、10羽に比較例2のHA及びリン脂質の混合製剤、を0.3mlを10日間隔で2回、投与した。尚、残り10羽はコントロールのため水溶液の注入を行わず同間隔で麻酔のみを実施した。2回目の注入より10日後に全例屠殺し、X線撮影を行った。膝関節部より靱帯と関節包及び半月以外の軟部組織を切除し、直ちに、振り子摩擦試験機により低振幅域 (0.03~0.01rad)、加重3kgでの摩擦係数を測定した。摩擦係数は、振り子の減衰に於ける位置エネルギーの損失が全て摩擦によるとする仮定により算出した。その結果を表1に示す。

【0036】

【表1】

実験 No	振り子摩擦試験による摩擦係数	備考
1	0.015 ± 0.008	実施例1
2	0.012 ± 0.004	実施例2
3	0.032 ± 0.006	比較例1
4	0.028 ± 0.007	比較例2
5	0.045 ± 0.009	コントロール
6	0.012 ± 0.004	無処置左足群

【0037】表1より、振り子摩擦試験による摩擦係数は実施例1のHAゲル及びリン脂質の混合製剤、及び実施例2のHAとHAゲル及びリン脂質の混合製剤が、比較例1、2より優位に低く、その値は正常な無処置群と同様な低い値を示した。

【0038】また、関節軟骨組織切片を切り出し、このX線像から骨の増殖性変化を評価した。評価基準は、無

処置の膝と比較して、軟骨下骨への効果と軟骨辺縁の骨棘の形成と軟骨面の滑らかさの3つの面から各々 (2点: 正常、1点: 中程度の異常、0点: 重度の異常) から評価し、0点から6点の7段階にグレーディングした。その結果を表2に示す。

【0039】

【表2】

実験 No	X線像のスコアリング	備考
7	5.0 ± 1.2	実施例 1
8	5.5 ± 1.0	実施例 2
9	1.8 ± 1.0	比較例 1
10	2.2 ± 1.0	比較例 2
11	1.3 ± 1.3	コントロール
12	5.8 ± 0.5	無処置左足群

【0040】表2より、驚くべきことに実施例1、2は正常な無処置群に近い大きな治療効果が認められた。それに対し、比較例1、2では軟骨の増殖変形が認められた。また、コントロールは著しい増殖性変形が認められた。

【0041】

【発明の効果】以上、本発明の生体適合性のHAゲル及びリン脂質、及び／又はHAを含有してなる構成の関節症治療用注入剤は、従来のHA及びHAゲル、又はHA及びリン脂質の構成の混合製剤では得られない製剤の投与回数の低減と高い治療効果を有するものである。

フロントページの続き

Fターム(参考) 4C076 AA16 BB21 CC09 DD63 FF67
4C086 AA01 AA02 EA25 NA06 ZA96